Istituto di Anatomia Umana Normale (diretto dal Prof. Luigi Sala) e dalla Clinica Medica Generale (diretta dal Prof Carlo Forlanini) della R. Università di Pavia.

C. L. Rusca - CONTRIBUTO ALLA CONOSCENZA DELLA PATOLOGIA SPERIMENTALE DELLA CELLULA RENALE (ISCHEMIA PERMANENTE E TEMPORANEA, LEGATURA DELL' URETERE).

Estratto da

FOLIA CLINICA CHIMICA ET MICROSCOPICA

Vol. II. - Fasc. VII. - Marzo 1910.

— Tipografia Adamo Mattioli —

Borgo San Donnino - Salsomaggiore

Rispettoso omaggio dell'a

Istituto di Anatomia Umana Normale (diretto dal Prof. Luigi Sala) e dalla Clinica Medica Generale (diretta dal Prof. Carlo Forlanini) della R. Università di Pavia.

C. L. Rusca - CONTRIBUTO ALLA CONOSCENZA DELLA PATOLOGIA SPERIMENTALE DELLA CELLULA RENALE (ISCHEMIA PERMANENTE E TEMPORANEA, LEGATURA DELL' URETERE).

Gli studi recenti di Cesa-Bianchi (1) sulle fine alterazioni provocate nella cellula della parte contorta del canalicolo renale, sia in vitro dalle soluzioni saline osmo-nocive e dall'autolisi asettica postmortale, che in vivo durante il corso dell' inanizione, mi hanno spinto a ricercare, seguendo gli stessi procedimenti di tecnica e lo stesso indirizzo critico, le lesioni che si provocano nel medesimo elemento in seguito alla legatura permanente e temporanea dei vasi renali e dell'uretere. Ho pure cercato di stabilire il meccanismo con cui si producono queste lesioni, il loro modo di decorrere, le cause che le determinano e infine la possibilità di riparazione delle medesime.

La legatura temporanea o permanente dei vasi renali e dell'uretere è certamente fra i varî procedimenti di

(1) Cesa-Bianchi — Experimentelle Untersuchungen über die Nierenzelle - Frankf. Zeitschr f. Path., Bd. 3, 909
Id. — Leber u. Nierenzelle während der Verhungerung - Frankf. Zeitschr. f. Path. Bd. 3, 1909.
Id. — Contributo alla conoscenza dell'anatomia e della fisiopatologia renale. Intern. Monatschr. f. Anat. u. Physiol. 1909.

tecnica quello che più spesso hanno seguito gli AA. nello studio della patologia sperimentale del rene. Per brevità, siccome il riassunto critico di queste esperienze è già stato fatto nelle più recenti pubblicazioni, ricorderò soltanto le conclusioni dei principali lavori su questo argomento, ed in modo speciale dei più recenti. Premetto che le mie ricerche sono state compiute esclusivamente sulla cellula che riveste la parte contorta del tubulo renale, e che si è convenuto di chiamare per brevità « cellula renale », e riguardano principalmente le lesioni iniziali, le prime che si manifestano nel delicato protoplasma di questo elemento, che sono più facilmente riparabili, a differenza di quanto ha fatto la maggior parte degli AA. che mi hanno preceduto, i quali si sono di preferenza occupati delle lesioni più gravi, ultime della cellula renale.

Israel (1) assodò che nella ischemia temporanea del rene si ha il quadro tipico della necrosi di coagulazione, la quale è più o meno spiccata e non sempre proporzionale alla durata dell' ischemia.

Questo A. praticava delle legature temporanee dell' arteria renale della durata di 2-4 ore; osservando i due reni subito dopo il ristabilimento del circolo, non vi riscontrava lesione alcuna: dopo 24 ore invece l'esame della sostanza corticale, che appariva maggiormente lesa, gli rivelava un impicciolimento dell' epitelio con successivo raggrinzamento del protoplasma: inoltre una manifesta secrezione in massa di fibrina nell' interno del canalicolo, mentre qua e là in alcuni canalicoli apparivano finissimi granuli calcari che riempivano più o meno campattamente gli epitelî.

La fibrina cadeva in seguito nel lume del canalicolo in forma di blocchi, o, più spesso, di fitti intrecci di filamenti nelle cui maglie rimanevano impigliati i detriti cellulari staccatisi dalla membrana basale.

L'A. osservava anche vacuolizzazione e svuotamento del corpo cellulare, scomparsa dell'orlo a spazzola, raggrinzamento e successiva dissoluzione dei nuclei. Quanto ai granuli del citoplasma essi da principio perdevano la loro disposizione seriata, a file, diventavano irregolarmente stipati verso la base della cellula: poi divenivano meno atti ad assumere le sostanze coloranti, e ciò in relazione - secondo Israel - con la calcificazione del protoplasma, e infine sparivano completamente (6° - 7° giorno). A un certo stadio comparivano nel citoplasma piccoli granuli, tinti fortemente in nero dall'acido

(1) Israel - Die anämische Nekrose der Nierenepithelien. Virch. Arch. Bd. 123 - 1891.

osmico, segno di una " metamorfosi grassa „ dell'epitelio: nelle cellule dove tali granuli si osservavano in copia, mancavano sempre il uucleo e i granuli fuxinofili. Nella legatura permanente e monolaterale dell'arteria renale i fenomeni erano dapprima assai più semplici, mancando la secrezione fibrinosa e la calcificazione.

Cesaris Demel (1) legava una sola branca dell'arteria renale onde avere punti di confronto nel medesimo preparato. Riscontrava perdita di regolarità dei granuli fuxinofili (bioblasti di Altmann) diminuzione della loro colorabilità con la fuxina e del loro numero, concordando in ciò con Schilling, ed Israel. Inoltre nella porzione interna del canalicolo a un certo stadio osservava dei granuli, assai raramente fusi in goccie, che si tingevano intensamente per azione dell'acido osmico e ch'egli interpretava come goccie di grasso: il grasso appariva assai rapidamente, per una rapida scissione delle albumine, toccando il suo massimo dopo circa 5 ore.

Questo A., basandosi sul fatto che non gli fu mai dato di osservare nessuna delle infinite forme di passaggio tra i granuli fuxinofili e i granuli di grasso descritte da Altmann, ammette una indipendenza assoluta tra il grasso e i bioblasti.

Ferrarini (2) osservò, in una lunga serie di esperienze praticate sul coniglio, che ischemizzando temporaneamente un rene si hanno nel medesimo effetti proporzionali alla durata dell'ischemia: che le lesioni da esse prodotte interessano tutti gli elementi, vasi e connettivo compresi: inoltre che le lesioni dovute a semplice ischemia sono necrobiotiche e si manifestano nei tubuli contorti con la scomparsa dei granuli, con fatti di rigonfiamento torbido, di rarefazione e vacuolizzazione protoplasmatica (1|2 ora di ischemia), con lesioni dei nuclei consistenti in raggrinzamento, polverizzazione, rottura dei medesimi, con sfibrillamento e sfaldamento dei protoplasmi, e successiva caduta dei detriti nel lume, fino a completa necrobiosi degli epitelî; mentre invece i fatti secondari o riparatori sono infiammatorî e si esplicano con accumulo di elementi linfoidi nel connettivo e nei glomeruli e talora anche con fatti emorragici interstiziali e glomerulari. All'infiammazione reattiva, a risvegliar la quale occorrono lesioni e degenerazioni di una certa entità, si accompagna la rigenerazione del tessuto, che si ottiene con la cariocinesi del nucleo delle cellule rimaste sane, cariocinesi che s'iniziano specialmente nei tubuli contorti subito dopo 1|2, 1 ora (e non come vorrebbe Jatta dopo 48 ore) toccando il maximum dopo 1-2 giorni dall'operazione. Secondo Ferrarini la guarigione delle lesioni renali è completa dopo 9-10 giorni per una ischemia della durata di 1|2 ora, dopo circa un

(1) Cesaris Demel - De la rapide apparition de la graisse dans les infarctus rénaux, en rapport avec les bioblastes de Altmann. Arch. It. de Biol. XXIV, 1895.

(2) Ferrarini - Sopra le lesioni prodotte nel rene dell'ischemia temporanea. Morgagni 1903.

Id. - Sulla guaribilità funzionale delle lesioni renali da ischemia temporanea. Riv. veneta di Scienze mediche 1903.

mese per una ischemia di 1 ora: la cessazione anche totale dell'albuminuria (che dura di solito 45-80 ore, fino a 6 giorni) non va considerato come indice della guarigione renale. Nel rene ischemizzato secondo l'A. non si riscontra mai grasso.

Da una serie di lavori di Castaigne, Mayer, Rathery, (1) risulta che le alterazioni rilevabili nel tubulo contorto dopo ischemia o legatura dell'uretere cominciano subito dopo il primo quarto d'ora, raggiungendo il maximun dopo 1-2 ore. In queste alterazioni alle quali gli AA. danno il nome complessivo di " cytholyse protoplasmatique des tubes contournés „ si possono distinguere tre stadi diversi: in un primo stadio le cellule sono normali per forma, aspetto e volume: attorno al nucleo si nota una zona chiara con scomparsa dei granuli; in un secondo i granuli sono quasi scomparsi in tutta la cellula salvo che nella zona basale: l'orlo a spazzola è conservato, il nucleo è normale; in un terzo stadio del protoplasma esiste solo uno stroma cellulare sormontato dall'orlo a spazzola; il nucleo è alterato, talora rimangono solo dei detriti nucleari. Per lo più anche lo stroma è scomparso e nel lume del canalicolo si trovano abbondanti detriti derivanti dal disfacimento del protoplasma e del nucleo e dalla rottura dell'orlo a spazzola.

Ignatowsky (2) studiando gli effetti della legatura dell'arteria trovò che dopo 1 1|2-2 ore si ha una necrosi generale: [Litten] mentre dopo un mese, contrariamente alle conclusioni di Castaigne e Rathery, il tessuto renale è sostituito da connettivo ed il rene è calcificato e ridotto a 1|3 e 2|5 del volume primitivo. Per effetto della legatura della vena già dopo due ore si osservano alterazioni necrotiche nei canalicoli, consistenti in desquamazione e calcificazione degli epitelî: più tardi si notano proliferazioni nel tessuto renale e iperplasia del connettivo [Litten, Cornil]: da principio si ha un'anuria riflessa, indi ematuria ed albuminuria. Gli effetti generali sono più gravi. La restitutio ad integrum avviene dopo circa 2 1|2 settimane.

(1) Castaigne et Rathery. - Néphrectomie, ligature de l'artère rénale et de l'uretère etc. C. R. Soc. de Biol. Paris, 1901.

Id. Lésions expérimentales du rein. Arch. de méd. expér. et d'Anat. path. T. 14, 1902.

Id. Lésions expérimentales de l'épithelium des tubes contournés. C. R. Soc. de Biol., Paris, 1902.

Chirié et Mayer - Récherches sur les lésions du foie et du rein etc. C. R. Soc. de Biol. Paris, 1908.

Mayer et Rathery. - Récherches sur l'hystophisiologie de la sécretion urinaire. Arch. d'Anat. micr., 1909.

(2). Ignatowsky - Récherches sur les effectes de la néphrectomie la ligature de l'urétère. Journ. de la Phys. et de la Path. gén. 1906.

Id. - Récherches sur les effectes de la ligature de l'artère ou de la veine rénale. Journ. de la Phys. et de la Path. gén. 1906.

In seguito alla legatura dell'uretere (Lindemann) si ha idronefrosi e diminuzione d'urina, stasi nei tubuli contorti, degenerazione degli epitelî, distensione dei canalicoli e della capsula, con formazione di cavità cistiche, sclerosi atrofiche; 13 mesi dopo al posto della sostanza corticale si ha una capsula ispessita (Bertenson). Queste lesioni però insorgono molto lentamente.

Schmaus e Albrecht (1) ammettono che nella necrosi anemica abbia luogo un'abbondante coagulazione e la secondaria dissoluzione delle parti coagulate avvenga con lentezza in causa delle insufficienti condizioni di circolo. Le lesioni sono più evidenti se dopo l'ischemia si ristabilisce il circolo: in questo caso i processi di rottura della membrana nucleare e di cromatolisi si svolgono con grande rapidità: l'autolisi macro- e microscopica dà il quadro dell'imbibizione e del rigonfiamento torbido: in tal caso le lesioni delle pareti vasali permettono un più ricco afflusso di sangue su gruppi di cellule o morenti o già morte, che vengono ad esser così sottoposte ad una pressione normale, mentre prima la pressione sanguigna era minima.

Fatti analoghi si osservano nella legatura della vena: in tal caso si accompagna degenerazione grassa. La legatura dell'uretere dopo 24-48 ore ci dà nella cellula renale il quadro della " trübe Schwellung ": così pure una legatura temporanea dell'arteria nelle 12-24 ore successive: i canalicoli assumono aspetto torbido, finamente granulare: i nuclei sono in cariorexi.

Gli A.A. non sanno precisare se tra la " trübe Schwellung " da intossicazioni per veleni settici e quella circolatoria ci siano analogie come quelle esistenti tra la necrosi tossica e la circolatoria. Certo è che nella sepsi si ha formazione di mielina colorabile anche a temperatura ambiente: nella legatura della vena si ha maggior divisione in granuli e formazione di gócciole di grasso. In conclusione le modificazioni che si ottengono nel protoplama renale mediante la legatura dei vasi e dell'uretere sono, in stadi più o meno avanzati, le seguenti:

1. più facile produzione di mielina: in alcuni casi si presenta anche grasso;
2. formazione di finissimi granuli di albumine coagulate;
3. aumento del contenuto d'acqua (Orgler).

(1) Albrecht. - Zur physiologischen u. pathol. Morphologie der Nierenzellen. Verh. d. dtsch. Path. Ges. München, 1899.
Id. - Ueber die tropfige Entmischung von Zellen. Verh. d. dtsch. Path. Ges. Halle, 1902.
Id. - Die physikalische Organisation der Zelle. Frankfurter Zeitschr. f. Path. Bd. 1. 1907.
Schmaus u. Albrecht. - Ueber Kariorhexis. Virch. Arch. Bd. 138. Supp. S. 1. 1895.
Id. Id. - Zur Frage der Koagulationsnekrose. Dtsch. med. Wochehschr 1899.

Questa rapida rivista delle principali ricerche compiute sull'argomento ci mostra che in complesso quasi tutti gli AA. concordano nell'ammettere che sia per la ischemia temporanea o permanente, sia per legatura dell' uretere (e in questo caso assai più lentamente) si producono nella cellula renale lesioni di carattere essenzialmente necrobiotico, imputabili in parte al protoplasma (rarefazione, vacuolizzazione, distacco dalla membrana basale, sfibrillamento, caduta dei detriti nel lume, ecc.), in parte al nucleo (picnosi, cromatolisi, cariorexi, cariolisi ecc.),

A tutte queste ricerche che, come ho già ricordato, si riferiscono quasi esclusivamente alle lesioni più gravi, tardive della cellula renale, si possono muovere in linea generale due ordini di obiezioni: primo di essere state compiute esclusivamente su materiale fissato e colorato coi soliti metodi della tecnica istologica, secondo di mancare di un termine di confronto sicuro della struttura della cellula renale in condizioni normali. Difatti le recenti ricerche del Cesa-Bianchi (1) hanno dimostrato in modo esauriente come tutti i liquidi fissativi provochino lesioni più o meno gravi ed estese, ma sempre notevoli, della cellula renale, principalmente dovute all' azione osmo-nociva da essi esercitata sul delicato protoplasma della cellula renale. É principalmente in base a questo fatto e alla conseguente mancanza di un sicuro criterio sulla reale struttura della cellula renale in condizioni normali, che agli AA., i quali mi hanno preceduto in questo ordine di ricerche, non fu possibile di stabilire le prime lesioni che compaiono nella cellula renale, il loro modo di decorrere e la loro possibile riparazione: su tali questioni appunto io ho creduto opportuno di richiamare l'attenzione con questa nota.

Come si comprende, questo studio citologico minuto non era possibile se non mettendoci nelle condizioni di osservazione migliori e più vicine al vero, vale a dire

(1) Loc. cit.

adottando come principale metodo di indagine l'esame a fresco.

Già qualcosa veramente hanno fatto in tal senso anche Schmaus e Albrecht (1) nelle loro ricerche sulle lesioni della cellula renale in seguito a legatura temporanea della sola arteria. Io ho ripreso l'argomento occupandomi di preferenza delle prime lesioni consecutive a legatura permanente o temporanea del peduncolo vasale *in toto*, della vena e dell'arteria separatamente, nonchè dell'uretere. Quanto alle alterazioni prodotte nel rene opposto al rene in cui era stata fatta la legatura sia dei vasi come dell'uretere o a quello nefrectomizzato, mi forniranno materia per un prossimo studio.

Come animale da esperimento ho scelto il coniglio che è stato generalmente adoperato dagli altri ricercatori. Contro tale scelta stava il fatto che assai sovente nei conigli, anche apparentemenee sani, si riscontrano lesioni renali: tuttavia non potendo usare nè cavie nè topi per la difficoltà dell'atto operativo in simili animali, mi è stato giuocoforza decidermi per il coniglio: tanto più che nel cane e nel gatto l'atto operativo avrebbe richiesto l'uso di anestesici, i quali, come è noto, producono di per se stessi lesioni negli epitelî renali, che mi sarebbe poi stato impossibile sceverare da quelle attribuibili all'ischemia o alla legatura dell'uretere.

Ho operato in tutto 28 conigli: in 12 di questi ho praticato la legatura permanente dell'uretere, sacrificando l'animale dopo tempi variabili da $^1/_4$-$^1/_2$ ora fino a 48-96 ore, in 6 altri la !egatura permanente dell'arteria, o della vena, in 8 quella del peduncolo vasale *in toto*, sacrificando dopo tempi variabili da $^1/_4$ d'ora a 54 ore; in 2 infine praticai la legatura temporanea del pedunculo vasale per $^1/_2$ e 1 ora, ristabilii il circolo e sacrificai gli animali rispettivamente dopo 24 e 48 ore.

Ho operato, in tutti i casi, seguendo la più scrupolosa asepsi sul rene sinistro, come quello che per note ragioni

(1) Loc. cit.

anatomiche è più facilmente aggredibile nel coniglio. Ho seguito in alcuni casi la via addominale, in altri quella lombare. Per l'ischemia temporanea ottenevo la chiusura dei vasi, serrandoli tra le branche di una pinza emostatica, rivestita in punta di garza sterile: chiudevo provvisoriamente la ferita, avendo cura che la pinza non avesse col suo proprio peso a produrre stiramenti eccessivi: indi, toltala, mi assicuravo del ristabilimento del circolo.

L'operazione — assai semplice e rapida — era sopportata benissimo: trascurabile la perdita di sangue.

Tra tutti i conigli operati ebbi solo un caso d'infezione, del quale, naturalmente, non tenni conto.

I conigli erano scelti, press'a poco, della medesima età e peso: l'alimentazione era a base di trifoglio.

L'animale veniva poi ucciso per traumatismo bulbare.

Per l'esame istologico del materiale procedevo come segue. Di entrambi i reni eseguivo con la massima lestezza alcuni preparati a fresco, spappolando tra un vetrino portaoggetti e un copri, con modica pressione, previa dilacerazione con aghi, un frammento di sostanza corticale: lutavo i preparati con vasellina o paraffina onde impedire l'evaporazione ed osservavo subito a luce artificiale e con forte sistema di lenti.

Contemporaneamente allestivo alcuni preparati simili, dilacerando un frammento della sostanza corticale in una goccia della soluzione isotonica di Na Cl (1.25 per cento per la cellula renale, come risulta dai lavori di Cesa-Bianchi), tinta leggermente in rosso con l'aggiunta di traccie di rosso neutro: lasciavo agire per 2-3 minuti, chiudevo il preparato, lo lutavo, ed osservavo. Di ogni rene poi fissavo alcuni frammenti nelle miscele osmiche (d'Altmann, di Hermann) riducendo assai od abolendo l'acido acetico, che esercita un'azione solvente sui lipoidi, per poi colorare le sezioni con la fuxina di Altmann o col metodo di Galeotti: altri frammenti li fissavo in liquido di Zenker o in formolo-bicromato onde avere preparati di confronto, che coloravo con emallume-eosina, bleu di metile-eosina

(Mann), ematossilina ferrica (Heidenhain), ecc.; altri infine venivano conservati in formolo neutro al 10-15 per cento (in soluzione fisiologica all'1.25 per cento) per poi congelarli e colorarli col fettponceau secondo il metodo di Herxheimer, per la ricerca delle sostanze grasse (colorazione nucleare con ematossilina di Weigert o emallume).

Per maggiori dettagli sui metodi di fissazione e di colorazione e sulle modificazioni che essi provocano nel protoplasma della cellula renale rimando ai lavori di Cesa-Bianchi (1).

All'esposizione dei reperti ottenuti farò precedere un breve cenno sulla morfologia della cellula renale del coniglio, quale ci si presenta a fresco (senza intervento di alcuna sostanza, od in soluzione isotonica di Na Cl per la cellula renale). Essa servirà come termine di confronto per giudicare delle lesioni provocate sperimentalmente nella cellula renale.

A fresco (fig. 1) noi vediamo i singoli canalicoli o, meglio, frammenti di canalicoli, nella loro entità solida: il lume è mascherato dalle cellule che stanno nel piano superiore: non sono visibili i contorni cellulari: i nuclei appaiono come ombre più chiare, omogenee, sul resto del protoplasma, che a piccolo ingrandimento appare uniformemente granuloso: a più forte ingrandimento il citoplasma presenta invece tre porzioni distinte: una porzione basale o sottonucleare, una porzione intermedia o perinucleare ed una porzione centrale o sopranucleare, che delimita il lume del canalicolo. La regione basale si presenta costituita da minuti bastoncini, paralleli tra loro, tutti di uguale altezza nel medesimo canalicolo, con una estremità espansa che si impianta sulla membrana basale, la quale ci appare come una sottile linea rifrangente. L'altezza dei bastoncini varia da canalicolo a canalicolo; in alcuni essi si presentano come tozzi, in altri più slanciati, snelli. Generalmente si estendono soltanto nella re-

(1) Loc. cit.

gione sottonucleare della cellula, talora invece sembrano quasi inguainare il nucleo passandogli anche sui fianchi: allora i bastoncini laterali appaiono più lunghi dei centrali. La loro direzione è di solito normale alla membrana basale: però talora sono inclinati, sembra quasi secondo il senso della corrente liquida che scorre nel lume del canalicolo. Essi a fresco non si colorano col rosso neutro. Circa a metà o ai $^2/_3$ interni della cellula sta il nucleo che, come dissi, non è bene visibile a fresco: sopra ad esso sono tanti minutissimi granuli tondeggianti, splendenti, omogenei, che occupano generalmente soltanto la regione sopranucleare; talora invece essi formano intorno al nucleo, ove sono più stipati, una corona a più file o a fila unica, a seconda dei casi; quando si verifica tale disposizione, le singole corone di granuli sono riunite tra loro da granuli sparsi nella regione nucleare, che vengono in certo modo a formare come una palizzata al di sopra dei bastoncini. Non è raro però di trovare qualche granulo, in tutto simile a quelli che si rilevano nelle regioni peri- e sopranucleare, innicchiato fra i bastoncini; tale mancanza di netta separazione fra granuli e bastoncini è decisamente negata, almeno nel topo, da Cesa-Bianchi.

Questa discrepanza di osservazioni è probabilmente dovuta ai differenti animali usati nelle esperienze (topi e conigli). Un'altra differenza fra il tubulo del coniglio e quello del topo, quale si presenta a fresco, sta in una maggiore chiarezza ed evidenza delle particolarità delle singole cellule a favore di quest'ultimo.

La zona sopranucleare, come ho detto, è occupata anch'essa dai minuti granuli della zona perinucleare. Questi minuti granuli splendenti, tondeggianti, insolubili in acido acetico e in soluzione N $^1/_{10}$ di KOH, la quale li rigonfia soltanto, che presentano la colorazione vitale per colori iniettati in circolo e sopravitale (in vitro per azione del rosso neutro, del bleu di metilene, ecc.) e una lieve colorabilità per reattivi coloranti del grasso, sono certamente i *liposomi* della cellula renale. Questi liposomi che con

tutta probabilità rappresentano l'organo della funzione secernente della cellula renale sarebbero costituiti secondo Launoy da un nucleo proteico, insolubile in xilolo, termostabile, e da una membrana fluida avvolgente, termolabile, solubile in xilolo e riducibile coll'acido osmico.

L'orlo a spazzola non è mai visibile a fresco: la cellula renale appare limitata verso il lume canalicolare da una sottile membranella anista.

Questo è in breve quanto si osserva all'esame a fresco della cellula renale nel coniglio: pel significato morfologico e funzionale delle varie parti della cellula renale e per le teorie che tendono a spiegare, basandosi sui reperti istologici e microchimici, il delicato meccanismo della secrezione urinaria, rimando ai già ricordati lavori di Cesa-Bianchi (1).

Veniamo ora alle alterazioni che si producono nel rene in seguito alle lesioni sperimentali sopra ricordate.

Macroscopicamente nella legatura dell'arteria renale, si ha da principio un leggero aumento di volume dell'organo (1 $^1/_4$-1 $^1/_2$ volte il normale), indi una diminuzione: in sezione si ha sempre netta delimitazione tra le due sostanze: la corticale è rosea biancastra con zone limitate, nette, di colore rosso intenso; la midollare rosso oscuro. Nella legatura della vena si ha aumento notevolissimo di volume con massima distensione della capsula, colorito rosso intenso, talora violaceo; spesso si osservano emorragie sottocapsulari: in sezione si nota gran copia di sangue, coaguli nel bacinetto: sostanza corticale rosso nerastra con piccolo orlo periferico rosso vivo; sostanza midollare biancastra. Nella legatura dell'intero peduncolo vasale già dopo mezz'ora di legatura si ha aumento di volume dell'organo, che si accentua fino a divenire circa 2 volte il normale: la consistenza dapprima dura, diventa poi gelatinosa: la colorazione esterna del rene è rosso scura, talora con chiazze più intense: in sezione la delimita-

(1) Loc. cit.

zione fra le due sostanze non è evidente: si nota una colorazione diffusa rosso intensa, violacea, abbondanti emorragie: l'uretere pel primo tratto (2 cm. circa) si presenta talora congesto, nel resto è afflosciato. Nella legatura dell' uretere si produce un'idronefrosi: il rene si arrotonda, aumenta di volume (fino a 1 $^1/_2$-2 volte e più), diventa più chiaro. In sezione la sostanza corticale appare giallo-rosea, la midollare bianco-rosea; fra le due si nota una zona limitante rosa, nella quale si dìstinguono sovente delle strie raggiate, rosse: i bacinetti sono sovraripieni d' urina.

Nel caso delle legature temporanee di $^1/_2$-1 ora del peduncolo vasale con successivo ristabilimento del circolo per 24-48 ore, ho osservato all'autopsia nel primo caso un'ectasia (come una specie di dilatazione imbutiforme, senza però presenza nè di trombi nè di coaguli, chè il sangue scorreva ancor bene sotto la pressione digitale) della parete della vena renale opposta, proprio all'imbocco della medesima nella cava, nel secondo caso un'ectasia della cava sopra e sotto gli sbocchi delle renali: noto, incidentalmente, che la chiusura del peduncolo vasale sinistro era stata praticata a cirea 1 cm. e mezzo dall'ilo.

Quanto alla mortalità degli animali operati, io non saprei come conciliare le cifre che Castaigne e Rathery (1) dànno per le legature unilaterali dell'arteria (32 p. cento), dell'uretere (33 per cento), del peduncolo (39 per cento), coi reperti di altri AA. (Alessandrini, Giani, Ignatowsky), secondo i quali ìl rene leso potrebbe rimanere nell'organismo senza inconvenienti, trasformandosi poi lentamente in connettivo. Io non posso fare un'affermazione sicura in proposito, non avendo avuto campo di seguire gli animali operati per un lungo periodo di tempo dopo l'operazione, perchè le mie ricerche, intese specialmente a stabilire le lesioni prime, più facilmente riparabili della

(1) Loc. cit.

cellula renale, mi obbligavano a sacrificare gli animali entro 4 giorni dall'intervento. Tuttavia mi fu dato di osservare in due casi la morte rapida (in seconda giornata) per embolia polmonare, prodotta evidentemente dal distacco per opera della corrente sanguigna della cava, del trombo formatosi nella vena renale legata ed invadente la cava a mo' di sperone. Forse parte delle morti avute nei casi di Castaigne e Rathery, almeno di quelle avvenute nelle prime giornate, va attribuita a questa causa, che del resto venne ampiamente confermata da diversi casi clinici.

Ed ora passiamo alla descrizione delle alterazioni microscopiche che si rilevano con l'esame a fresco.

Esporrò la serie dei fenomeni nel loro ordine di successione: premetto fin d'ora che la legatura permanente dei vasi ci dà i medesimi risultati della legatura dell'uretere : solo in questo caso le lesioni compaiono più tardivamente ed hanno un decorso molto più lento.

La legatura in massa del peduncolo vasale dà risultati in tutto comparabili, in riguardo alla comparsa delle prime lesioni cellulari, alla legatura dei singoli vasi separatamente. Ho trascurato la legatura della vena, perchè le abbondantissime emorragie intercanalicolari che alla stasi susseguivano, rendevano oltremodo oscura l'interpretazione dei preparati.

Premetto un'osservazione generale che ho potuto fare in tutti i casi; le lesioni cellulari non colpiscono marcatamente tutti i canalicoli renali: anzi si nota una evidente discontinuità nella distribuzione delle lesioni, forse in rapporto alla discontinuità, o meglio all'alternanza funzionale dei canalicoli renali, che pare oramai accertata dalle più recenti ricerche [Mouriquaud e Policard (1), Cesa-Bianchi (2)]. In uno stesso canalicolo però tutti gli elementi cellulari sono ugualmente colpiti.

(1) Mouriquaud et Policard: L'alternance fonctionelle des tubes urinaires. — Journ. de la phys. et de la path. gén., 1907.

Id. Id. L'alternance fonctionelle des tubes urinaires dans les néphrites expérimentales — Lyon méd., 1908.

(2) Loc. cit.

Già nei primi stadî (legatura del peduncolo di un quarto d'ora) ci è dato rilevare che mentre in alcuni canalicoli i bastoncini della zona basale sono ben conservati, in altri si presentano più tozzi, in altri ancora li troviamo sostituiti da granulazioni opache che non assumono il rosso neutro: fra queste granulazioni qua e là troviamo sparsi alcuni bastoncini. Attorno al nucleo e nella zona sopranucleare vediamo i soliti minuti granuli splendenti, rotondeggianti, colorabili intensamente col rosso neutro, e sparsi in più file, disordinatamente (i liposomi). In qualche preparato ho avuto l'impressione che alcuni di questi granuli si spingano anche fra i bastoncini, quando questi sono conservati, verso la zona basale della cellula: in altri casi però non mi è stato possibile confermare questa osservazione.

Nell'interno del lume canalicolare si vedono talora grosse goccie sferiche, pallide, senza contorno splendente; si tratta probabilmente di goccie dì natura urinosa: il lume è per lo più assai ristretto. Ben visibile è la membrana basale, risplendente: appena percettibile la membranella limitante interna.

Le granulazioni opache non colorabili col rosso neutro derivano dalla frammentazione e successiva distruzione dei bastoncini: esse rappresentanc il primo grado della lesione del protoplasma cellulare, sono il principale esponente di quelle lesioni alle quali Albrecht ha dato il nome di *tropfige Entmischung*.

Queste granulazioni vennero finora ritenute dalla maggior parte degli AA. e anche da Takaki (1) fra i più recenti, come fisiologiche; anzi esse vennero spesso considerate come il prodotto o l'organo dəlla funzione renale; ma poichè esse non compaiono mai in condizioni normali all'esame a fresco, noi dobbiamo considerarle come la prima manifestazione dei processi regressivi ehe colpiscono il protoplasma della cellula renale (Cesa-Bianchi).

(1) Takaki Kenji: Ueber die Stäbchenstrukturen der Niere. — Arch. f. mikr. Anat., Bd. 70, 1907.

Se invece d'un quarto d'ora la legatura del peduncolo vasale dura più a lungo (mezz'ora), aumentano di numero e finiscono per prevalere i canalicoli in cui al posto dei bastoncini troviamo la zona sottonucleare del protoplasma costituita da granulazioni opache derivanti dalla frammentazione e successiva distruzione dei bastoncini. In alcuni canalicoli ho potuto sorprendere, oltre alle forme solite di frammentazione già descritte dal Cesa-Bianchi, una specie di movimeuto di torsione dei bastoncini, che si manifestava con una perdita del loro normale parallelismo (fig. 2). È probabile quindi che la loro frammentazione avvenga piuttosto per causa meccanica (torsioni, stiramenti da disturbi osmotici, correnti di diffusione o simili) che non in seguito a disssoluzione di granuli preesistenti e costituenti nel loro insieme i bastoncini, come vorrebbero alcuni autori, fra cui Takaki.

Dapprima le granulazioni derivanti dalla frammentazione dei bastoncini sono disposte regolarmente, in serie lineari, parallele fra loro (fig. 3): più tardi, specialmente dopo mezz'ora, un'ora dalla legatura, questa disposizione regolare scompare e le granulazioni si spargono disordinatamente in tutto il citoplasma (fig. 4, 5, 6). I liposomi, sempre colorabili vivamente col rosso neutro, si trovano sparsi fra le granulazioni opache, ma di preferenza occupano la zona sopranucleare. Il nucleo nou assume il rosso neutro: non si scorge traccia alcuna dell'orlo a spazzola.

Se la legatura ha durato più a lungo (3-6 ore), le lesioni della cellula renale appaiono sempre più gravi ed estese; i bastoncini sono dovunque scomparsi, le granulazioni che da essi derivano hanno occupato tutto il citoplasma, più che per aumento di numero per il loro aumento di volume: i liposomi sono notevolmente ridotti di numero.

Tra la 6ª e la 9ª ora dalla legatura compaiono nel protoplasma della cellula renale delle formazioni tondeggianti od irregolari, a forma di scagliette, isolate, o riunite in ammassi, per lo più situate nella zona perinucleare, fortemente splendenti a fresco, birifrangenti a luce

polarizzata, debolmente colorabili col rosso neutro (fig. 4). Contemporaneamente i liposomi hanno subito una forte riduzione di numero e talora sono anche completamente scomparsi. Oltre queste formazioni, in alcuni elementi cellulari si osservano formazioni che per alcuni caratteri si differenziano da quelle ora ricordate: sono di forma irregolare, poliedrica per lo più, a doppio contorno, birifrangenti, ma di dimensioni notevolmente maggiori, come quelle del nucleo e spesso anche superiori (fig. 5). In qualche caso queste formazioni omogenee, che non si colorano col rosso neutro, sembrano presentare una indistinta struttura reticolare, che è però forse soltanto simulata dalla esistenza in piani inferiori del preparato di altre formazioni e principalmente delle granulazioni derivanti dalla frammentazione dei bastoncini. Mentre la prima serie di formazioni si può facilmente identificare per i loro caratteri fisico-morfologici con le figure mieliniche, più difficile appare l'identificazione delle seconde. Io anzi non oso pronunciarmi sulla loro natura, per quanto la loro forma e più specialmente la proprietà di essere birifrangenti a luce polarizzata, mi potrebbero far pensare trattarsi di figure mieliniche.

Non starò qui a ricordare, per non uscire dai limiti che mi sono imposto in questa nota, tutta la lunga serie di questioni che si sono agitate e che si agitano tuttora fra chimici e morfologi, sulla natura chimica della mielina, sulla sua origine, sul suo significato: per queste rimando ai recenti lavori di Stoerk (1), Munk (2), Albrecht (3), Cesa-Bianchi (4), Launoy (5).

(1) Stoerk: Ueber Protagon u. über die grosse weisse Niere. — Sitzungber. d. K. Akad. Wien., Bd. 115, 1906.

(2) Munk: Ueber lipoide Degeneration. — Virch, Arch., Bd. 194, H. 3, 1908.

(3) Albrecht: Ueber die Bedeutung myelinigener Substanzen in Zellleben. — Verh. d. dtsch. Path. Ges. Kassel, 1903.

(4) Cesa-Bianchi: Beobachtungen u. experimentelle Untersuchungen über die fettige Degeneration u. die Myelindegeneration. — Frankf. Zeitsch. f. Path., Bd. 3, 1909.

(5) Launoy: Contribution à l'étude hysto-physiologique de l'autolyse aseptique du foie. — Ann. de l'Inst. Pasteur, 1909.

Ricorderò soltanto che la comparsa della mielina (la quale appartiene certamente al grande gruppo delle sostanze lipoidi, e probabilmente deriva appunto dalle lecitine e lecitalbumine, sostanze che sono assai abbondanti nel protoplasma della cellula renale, e sono morfologicamente rappresentate in gran parte dai liposomi), è sempre indice di profondi disturbi verificantisi nella costituzione del citoplasma e di conseguenza nella sua funzione e nella sua struttura. La comparsa della mielina, che avviene d'improvviso, in modo quasi esplosivo (Launoy) è un fenomeno che si verifica negli estremi limiti della vita cellulare, durante l'*agonia della cellula*, per usare l'espressione di Cesa-Bianchi.

Poco dopo la comparsa delle figure mieliniche, fra la 9ª e la 12ª ora dalla legatura, il nucleo della cellula renale, che finora era sempre rimasto indifferente, per così dire, a tutte le modificazioni di struttura subite dal citoplasma, comincia a presentare le prime lesioni, o meglio le prime deviazioni dalla norma, che si iniziano con la colorazione dapprima debole, poi sempre più intensa della cromatina nucleare col rosso neutro (fig. 6), colorazione che non avviene mai in condizioni normali. La colorabilità del nucleo (col rosso neutro), com'è noto, è il primo indizio dell'avvenuta morte cellulare; ad essa segue rapidamente tutta una serie di modificazioni nella struttura del nucleo fino ad arrivare alla completa distruzione di questo e dell'elemento cellulare corrispondente. Le lesioni nucleari che s'iniziano, come abbiamo visto, con la colorazione della cromatina da parte del rosso neutro, si susseguono rapidamente, presentando i soliti fenomeni della regressione nucleare, dalla semplice ipercromatosi della parete nucleare, alla cariorexi, alla picnosi, alla frammentazione del nucleo. Pare che la mielina non aumenti dopo la comparsa delle prime lesioni nucleari; il protoplasma si presenta costituito essenzialmente da grosse granulazioni sferiche, opache, incolori, con sparso qua e là qualche rarissimo liposoma.

Ricorderò ancora che in qualche caso ho notato nelle cellule renali appartenenti alla parte più periferica della sostanza cortìcale la presenza di grosse goccie sferiche, splendenti, isotrope, che non si colorano col rosso neutro, mentre si tingono vivamente in rosso col fettponceau ed in nero coi vapori di acido osmico. Si tratta evidentemente di goccie adipose, ben distinte pei loro caratteri morfologici, fisici e chimici delle figure mieliniche. Con tutta probabilità non si tratta in questi casi di degenerazione grassa nel senso classico della parola, bensì di una infiltrazione grassa, di un richiamo cioè di grasso dalla capsula adiposa del rene, in seguito alla legatura dəll'arteria renale. Difatti le goccie di grasso ora ricordate sono sempre limıtate agli elementi cellulari dei canalicoli periferici e non si riscontrano mai in quelli più centrali, mentre le figure mieliniche si osservano altrettanto numerose nei primi come nei secondi, essendo l'indice di una vera degenerazione o metamorfosi mielinica.

Queste, in breve, le osservazionl che si osservano nella cellula renale in seguito alla legatura permanente dei vasi: assai più gravi, o meglio più rapide, sono le lesioni che si osservano nel rene, in seguito all'ischemia temporanea. Già dopo l'ischemia di mezz'ora con consecutivo ristabilimento del circolo per 24 ore, si osserva all'esame a fresco nella maggior parte dei canalicoli scomparsa dei bastoncini, forte diminuzione dei liposomi, presenza di numerose piccole figure mieliniche, irregolari, poliedriche, a scagliette, birifrangenti, lievemente colorabili col rosso neutro: i nuclei sono normali: il citoplasma è quasi esclusivamente costituito da granulazioni opache, non colorabili, rotondeggianti, di volume diverso. Nell'ischemia di un'ora con ristabilimento del circolo per 48 ore si osserva scomparsa dei liposomi, gran quantità di mielina sparsa in tutto il citoplasma, inizio delle lesioni nucleari (colorazione del nucleo).

Anche nell'ischemia temporanea, sulla quale non mi soffermo più a lungo, non avendo potuto seguire attenta-

mente che due casi, si osserva quella discontinuità nella distribuzione delle lesioni cellulari, da tubulo a tubulo, che abbiamo già visto verificarsi in seguito alla legatura permanente, e che è già stata nettamente osservata da Cesa-Bianchi in diverse altre condizioni sperimentali e che con tutta probabilità deve mettersi in rapporto con l'alternanza funzionale dei canalicoli renali.

Nella legatura permanente dell'uretere si ripetono nello stesso ordine gli stessi fenomeni che si osservano nella legatura permanente dei vasi: sorvolo quindi, per non ripetermi, quanto ho già osservato in questa serie di ricerche, ricordando soltanto che le lesioni descritte s'iniziano più tardivamente e si svolgono in modo più lento di quello che non avvenga per la legatura dei vasi. Le lesioni iniziali cominciano dopo $1/2$-2 ore: la distruzione completa dei bastoncini e la formazione delle granulazioni si ha dopo 4 ore: in seguito le lesioni si diffondono a tutti i canalicoli. La mielina fa la sua prima comparsa all'incirca verso la 9ª-12ª ora: però non raggiunge mai nè la quantità nè la grossezza delle figure che si osserva nella ischemia permanente. Le lesioni nucleari s'iniziano dopo 36-48 ore e presentano lo stesso decorso sopra descritto. Va notato infine che nella legatura dell'uretere la discontinuità delle lesioni è ancora più accentuata di quello che non si verifichi nell'ischemia.

Passiamo ora ad una rapida descrizione dei preparati allestiti coi più comuni metodi di fissazione e di colorazione della tecnica istologica. Fra i liquidi fissatori ho dato la preferenza al formolo (seguito da sezioni per congelamento), al liquido di Zenker ed al liquido di Altmann o di Hermann con appena traccie e più spesso senza aggiunta di acido acetico. Fra le colorazioni oltre alle più comuni con l'ematossilina, ho usato più di frequente i metodi di Heidenhain e del Mann su pezzi fissati in Zenker e quelli di Altmann e di Galeotti sui pezzi fissati in miscele osmiche. Ho dato la preferenza a questi metodi poichè sono quelli che meno profondamente defor-

mano la reale struttura della cellula renale. È noto difatti, specialmente dalle ricerche di Cesa-Bianchi (1), che tutti i liquidi fissatori della tecnica istologica modificano più o meno profondamente la struttura della cellula renale, determinando in modo particolare dissoluzione dei liposomi e deformazione e talora anche distruzione dei bastoncini, con consecutiva formazione di granuli rotondeggianti, a causa della loro azione osmo-nociva sul sensibilissimo protoplasma della cellula renale.

Data questa azione dei liquidi fissatori, che io ho potuto pienamente confermare, è naturale che non si possa attribuire soverchia importanza ai reperti delle preparazioni fissate e colorate, alle quali invece si sono finora attenuti la grande maggioranza degli AA. Le lesioni iniziali anzi, caratterizzate dalla frammentazione dei bastoncini, con formazione di granulazioni disposte in serie o disordinatamente, non si possono bene seguire con questi metodi, perchè si osservano anche in condizioni normali, in seguito all'azione osmo-nociva dei liquidi fissatori. Di più le preparazioni fissate e colorate non si prestano per lo studio delle lesioni del protoplasma della cellula renale, anche perchè non conservano o conservano male i liposomi, la mielina e in genere tutte le sostanze lipoidi: esse invece permettono di seguire, in modo assai più netto delle preparazioni a fresco, le lesioni del nucleo.

Ciò premesso, riassumerò brevemente quanto ho avuto campo di osservare nelle mie ricerche, trascurando, per quanto ora ho esposto, le lesioni iniziali. Già fra la 3ª e la 4ª ora dalla legatura permanente dei vasi il protoplasma della maggior parte degli elementi cellulari si presenta essenzialmente occupato da granulazioni più o meno distinte, a seconda dei metodi di fissazione e colorazione che si sono seguiti, e disordinatamente disposte. Non si rileva traccia di liposomi, salvo in qualche caso, dove se ne scorge qualcuno, in numero però sempre li

(1) Loc. cit.

mitato, e solo nelle preparazioni fissate e colorate col metodo di Altmann (fig. 8): non si trovano figure mieliniche; l'orlo a spazzola è quasi sempre ben evidente; il nucleo è centrale, perfettamente conservato, quasi sempre circondato da un alone di protoplasma chiaro, rarefatto. I lumi canalicolari sono per lo più larghi, contenenti spesso granuli amorfi, isolati, od in ammassi, intensamente colorabili coi colori nucleari. Le lesioni ora accennate vanno sempre più aumentando d'intensità e di diffusione quanto più a lungo ha durato l'interruzione della circolazione sanguigna; le granulazioni del protoplasma vanno facendosi sempre più distinte, voluminose ed intensamente colorabili, finchè verso la 6ª ora compaiono le prime lesioni nucleari, che colpiscono tanto la forma del nucleo, che da sferico si fa irregolare, angoloso, quanto la sua struttura: la cromatina tende a portarsi verso la periferia, si dispone lungo la parete nucleare (ipercromatosi della parete nucleare), quindi si riunisce in blocchi compatti, sparsi in una vescicola chiara, che più tardi si rompe versando il contenuto nel protoplasma circostante: in altri casi invece la cromatina si ammassa in un blocco unico, intensamente colorato. In breve, a partire dalla 9ª fino alla 12ª-24ª ora si osservano nei nuclei della maggior parte delle cellule renali tutte quelle serie di modificazioni di struttura che che conducono alla cariorexi e alla picnosi nucleare (fig. 9). Contemporaneamente a questi fatti si osserva la caduta e la distruzione dell'orlo a spazzola con consecutivo versamento dei detriti del protoplosma e del nucleo nei lumi canalicolari. Nei preparati fissati in liquidi osmici si osservano anche, almeno limitatamente ai canalicoli renali più periferici, alcune grosse goccie di grasso: si tratta, come abbiamo già detto sopra, di una infiltrazione adiposa (fig. 10).

Le figure mieliniche ed i liposomi, che, come si è visto, non sono conservati dai comuni liquidifissa tori, o lo sono soltanto in parte e malamente, si possono invece osservare, per quanto in modo assai meno distinto di

quello che non permetta l'esame a fresco, nei pezzi conservati in formalina (al 10-15 per cento in soluzione di Na Cl isotonica per la cellula renale, 1,25 per cento) sezionati per congelamento e quindi colorati con fettponceau ed ematossilina. Il fettponceau colora, per quante debolmente, in rosa, le figure mieliniche (fig. 7), le quali, colorate, non presentano però più la birifrangenza a luce polarizzata, ed i liposomi, che sono sempre però scarsissimi; le goccie di grasso invece si colorano in rosso vivo. Le prime figure mieliche compaiono verso la 6ª ora dalla ischemia permanente e presentano lo stesso comportamento che si osserva in modo assai più netto con l'esame a fresco: i liposomi vanno sempre più diminuendo di numero finchè scompaiono totalmente. Le granulazioni derivanti dalla frammentazione dei bastoncini e che rigonfiandosi finiscono con l'occupare quasi tutto il citoplasma, non si colorano mai.

Per quanto riguarda l'ischemia temporanea e la legature dell'uretere, nelle preparazioni fissate e colorate si osservano gli stessi fatti che si osservano a fresco: per non ripetermi rimando a quanto ho detto sopra.

***

Questi sono i fatti che ho potuto osservare nel corso delle mie ricerche. Se si volessero ora trarre delle conclusioni di carattere generale, si potrebbe affermare che le lesioni che si verificano nella cellula renale in seguito alla legatura dei vasi o dell'uretere sono proporzionali alla durata della legatura, s'iniziano nel protoplasma a carico dei bastoncini dapprima, e poi dei liposomi, quindi colpiscono il nucleo e possono condurre nei casi più gravi fino alla completa distruzione degli elementi cellulari. Queste lesioni corrispondono sia per i loro caratteri, sia per il modo di decorrere, a quelle riscontrate da Cesa-Bianchi *in vitro* per azione delle soluzioni saline osmonocive e dell'autolisi asettica postmortale, e confermate *in vivo* dallo stesso A. durante il corso dell'inanizione. Come queste, possono essere riunite in due gruppi: le prime a

comparire in ordine di tempo sono a carico esclusivamente del protoplasma: s'iniziano con la formazione di granulazioni dapprima piccole e disposte in serie lineari parallele, poi sempre più voluminose e disposte disordinatamente sino ad occupare quasi totalmente il citoplasma, mentre i liposomi diminuiscono notevolmente di numero: le seconde, che sopravvengono più tardivamenie, sono a carico sia del protoplasma che del nucleo e s'iniziano con la comparsa delle figure mieliniche, alla quale segue tutta una serie di lesioni nucleari che possono condurre sino alla completa distruzione dell'elemento cellulare. Le prime lesioni corrispondono a quelle constatate da Cesa Bianchi in seguito all'azione *in vitro* delle soluzioni saline osmo-nocive: è quindi probabile che riconoscano una stessa origine, siano cioè l'espressione di fenomeni prevalentemente fisici e più precisamente di disturbi osmotici (tonolisi): le seconde invece che corrispondono, almeno in parte, a quelle che si osservano nel corso dell'autolisi asettica postmortale, e che sono essenzialmente caratterizzate dalla comparsa della mielina, sono con tutta probabilità l'espressione di fenomeni prevalentemente chimici, forse dovuti all'azione di particolari enzimi endocellulari (toxolisi).

Mentre le prime lesioni a carico esclusivamente del citoplasma sono facilmente riparabili, permettono cioè una completa *restitutio ad integrum* degli elementi cellulari colpiti, le seconde invece conducono inevitabilmente alla morte cellulare.

Possiamo quindi ritenere la comparsa della mielina, che, come si è visto, è presto seguita dalle prime lesioni nucleari, come il segno di profondi disturbi nella vita delle cellule, anzi meglio come l'indice della imminente morte e della consecutiva distruzione degli elementi cellulari.

Le mie ricerche vengono quindi a confermare, salvo qualche discrepanza di dettaglio, quanto ha stabilito di recente il Cesa-Bianchi nei suoi studî sulla patologia sperimentale della cellula renale.

Giunto alla redazione il 6-2-1910.

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE

Fig. 1. Canalicolo contorto normale di coniglio. Bastoncini e liposomi. Esame a fresco. Ob. 1|15 semiapocrom. imm. omog. Koristka. Oc. 4 comp.

Fig. 2. Canalicolo contorto di coniglio. Legatura permanente del peduncolo vasale di mezz'ora. Torsione e perdita di parallelismo dei bastoncini: granulazioni. Esame a fresco. Ob. 1|15. Oc. 6 comp.

Fig. 3. Canalicolo di coniglio. Legatura permanente del peduncolo vasale di 1 ora. Frammentazione dei bastoncini con formazione di granulazioni incolori disposte in serie lineari parallele: scarsi liposomi colorabili. Esame a fresco in soluzione isotonica (1.25 p. cento) di Na Cl, con aggiunta di rosso neutro. Ob. 1|15. Oc. 6 comp.

Fig. 4. Canalicolo contorto di coniglio. Legatura permanente del peduncolo vasale di 7 ore. Comparsa delle forme mieliniche, forte diminuzione dei liposomi, disposizione irregolare delle granulazioni derivanti dai bastoncini. Esame a fresco in soluzione isotonica con rosso neutro. Ob. 1|15. Oc. 6 comp.

Fig. 5. Canalicolo contorto di coniglio. Legatura permanente del peduncolo vasale di 9 ore. Figure mieliniche (?) voluminose e numerose. Esame a fresco. Ob. 1|15. Oc. 6 comp.

Fig. 6. Canalicolo contorto di coniglio. Legatura permanente del peduncolo vasale di 24 ore. Inizio delle lesioni nucleari: granulazioni del citoplasma voluminose, a forma di goccie opache, liposomi quasi del tutto scomparsi. Esame a fresco in soluzione isotonica con rosso neutro. Ob. 1|15. Oc. 6 comp.

Fig. 7. Canalicolo contorto di coniglio. Legatura temporanea del peduncolo vasale, ristabilimento del circolo dopo mezz'ora, esame dopo 24 ore. Numerose forme mieliniche, grosse granulazioni del protoplasma. Formolo neutro 10 per cento. Fettponceau, ematossilina di Weigert. Ob. 1|15. Oc. 6 comp,

Fig. 8. Canalicolo contorto di coniglio. Legatura dell' uretere di 25 ore. Protoplasma essenzialmente costituito da grosse granulazioni: liposomi più scarsi della norma. Orlo a spazzola manifesto. Fissazione in liquido di Altmann: colorazione con fuxina acida e acido picrico. Ob. 1|15. Oc. 4 comp.

Fig. 9. Canalicolo contorto di coniglio. Legatura permanente del peduncolo vasale di 48 ore. Lesioni nucleari: picnosi, cariolisi, cariorexi. Liq. di Zenker. Ematossilina ferrica, eritrosina. Ob. 1|15. Oc. 6 comp.

Fig. 10. Canalicolo contorto periferico di coniglio. Legatura permanente del peduncolo vasale di 48 ore. Voluminose goccie di grasso (infiltrazione adiposa): elementi cellulari in distruzione. Fissazione in liquido di Altmann: colorazione con fuxina acida, acido picrico. Ob. 1|15. Oc. 6 comp.

Tutte le figure furono disegnate con l'aiuto della camera chiara Abbé-Apathy. Tavolino all'altezza del preparato. Tubo di 160 m|m.

Fig. 1.

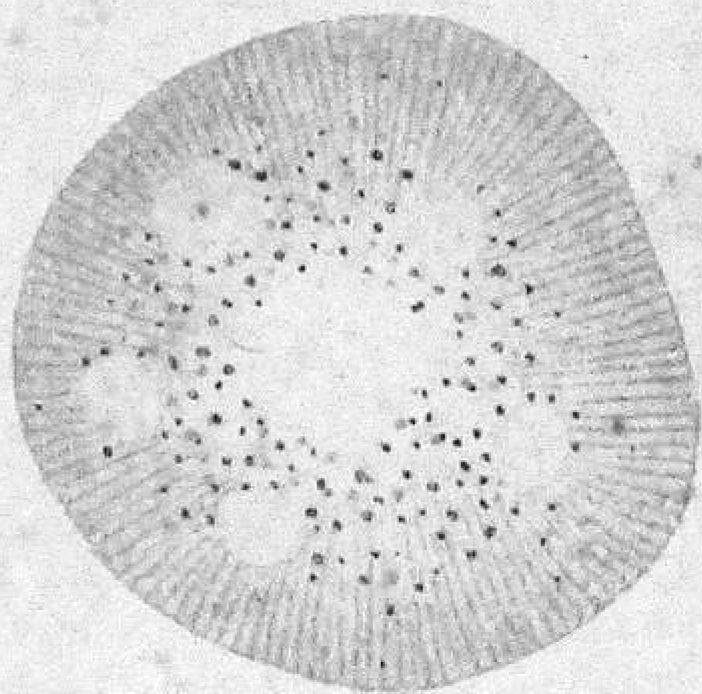


Fig. 2.

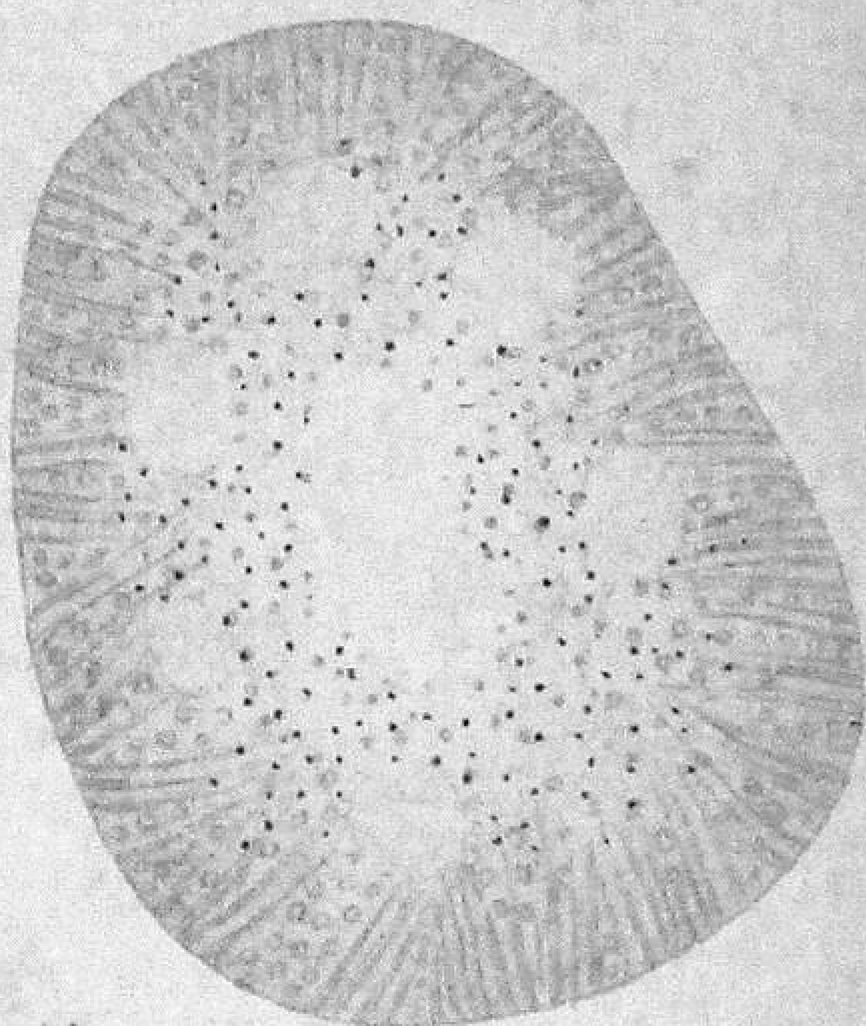


Fig. 3.

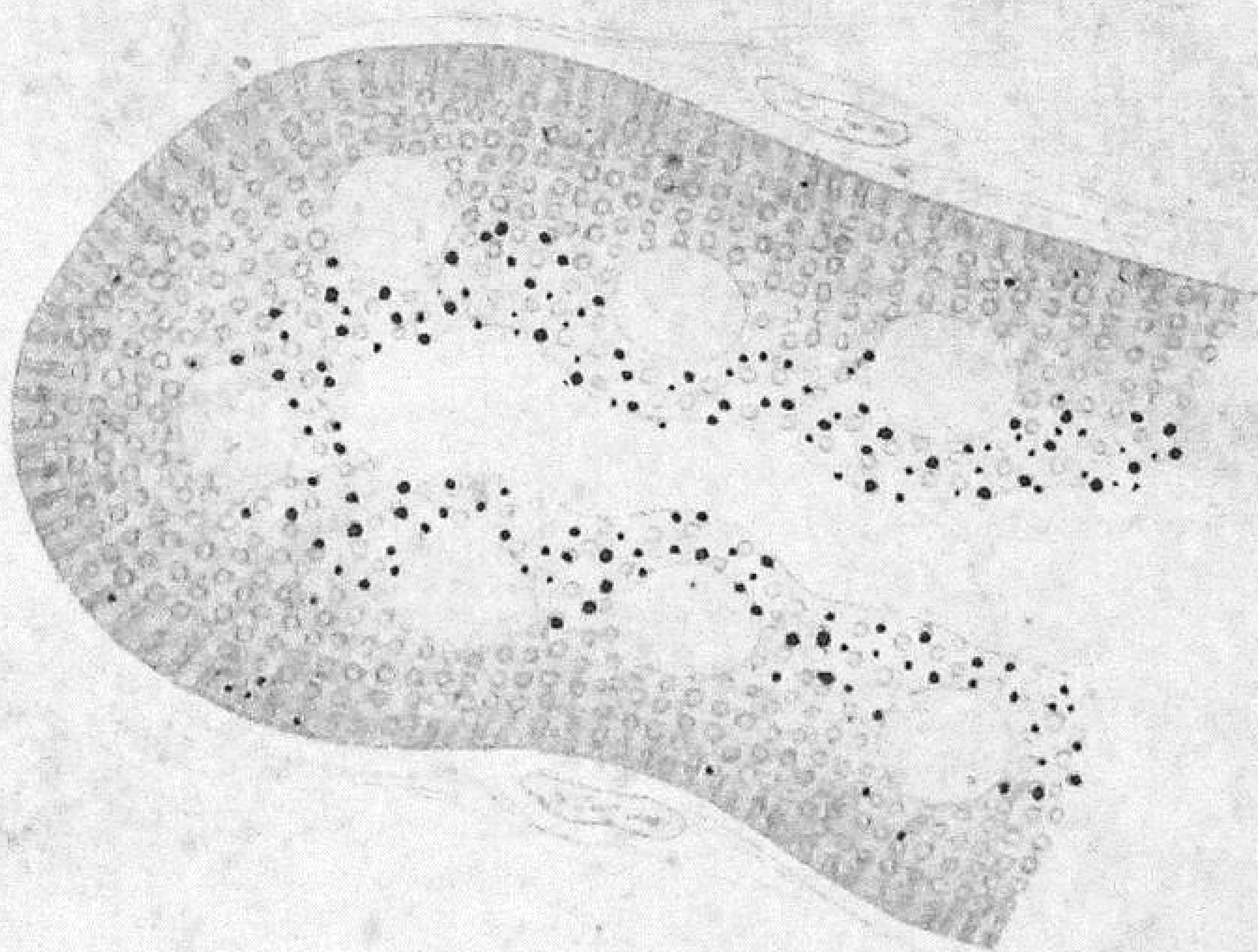


Fig. 5.

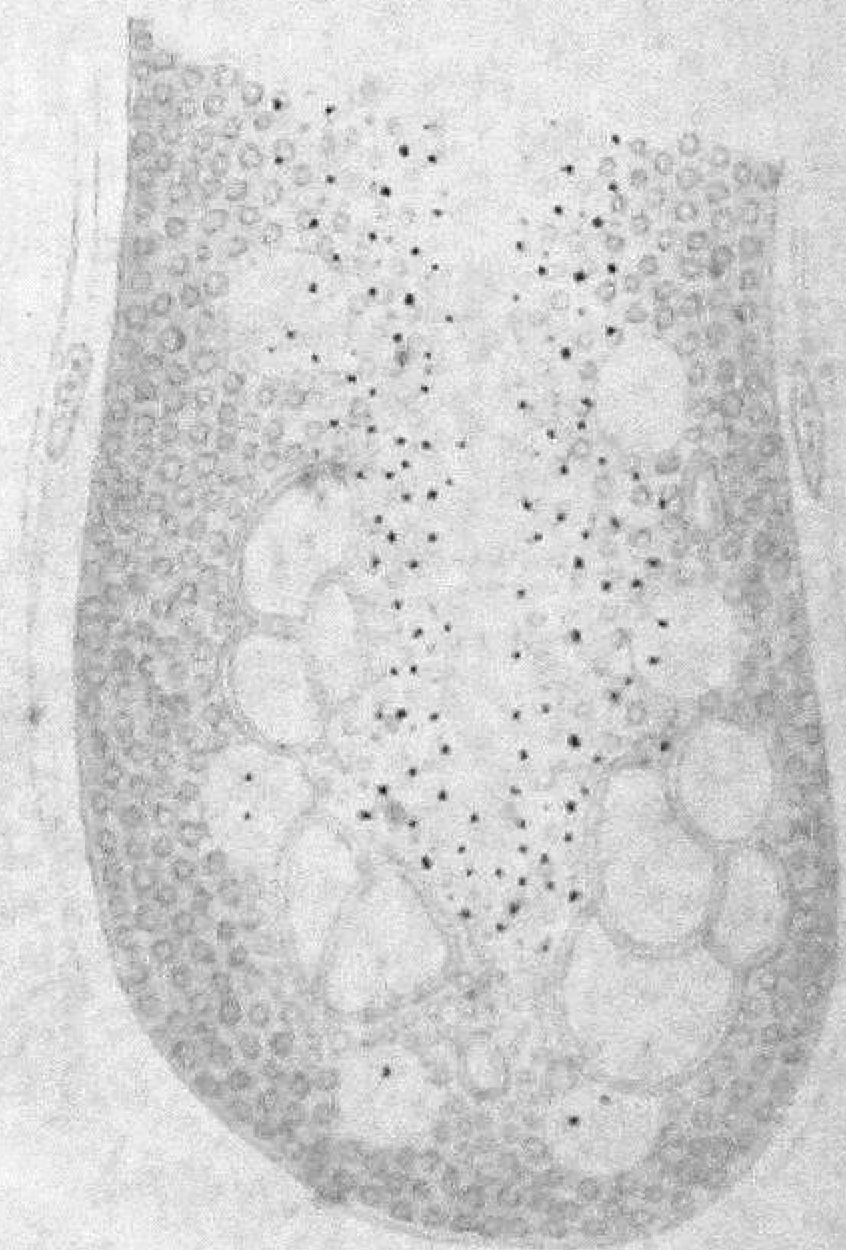
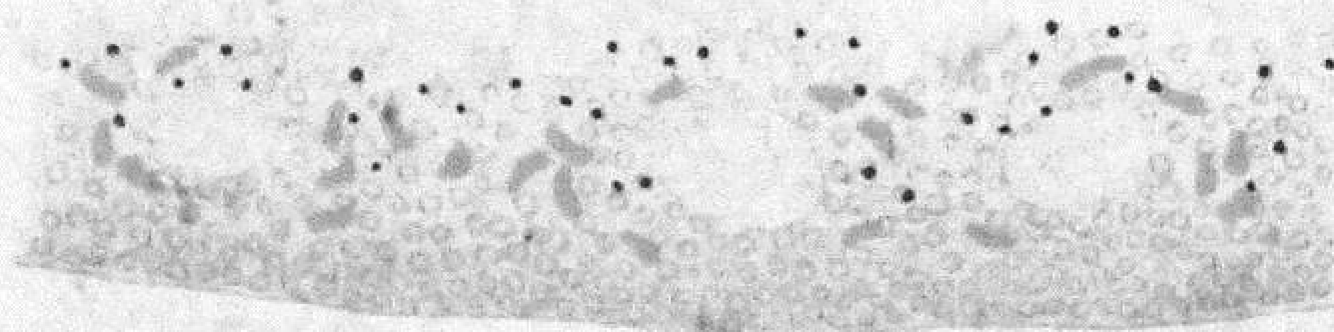


Fig. 4.



C. L. Rusca del.

Fig. 6.

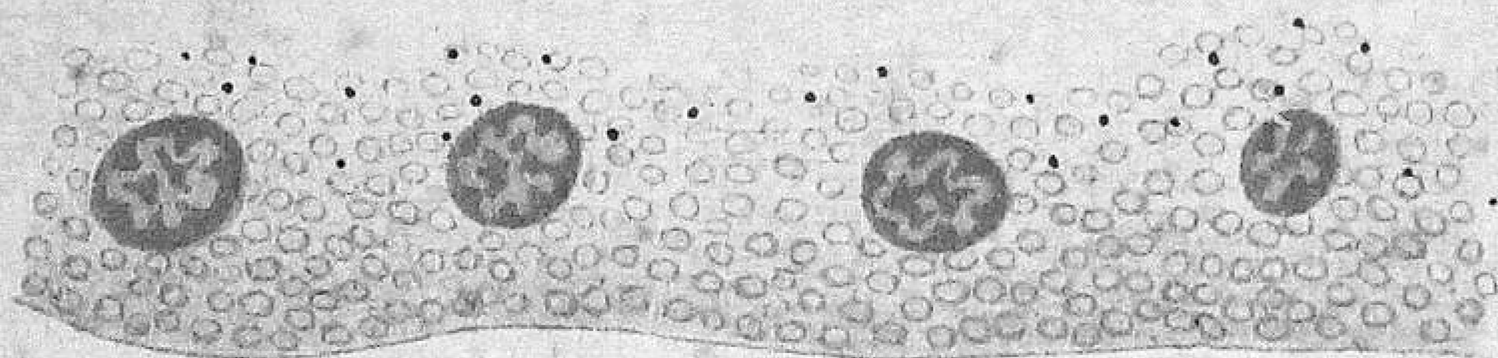


Fig 7.

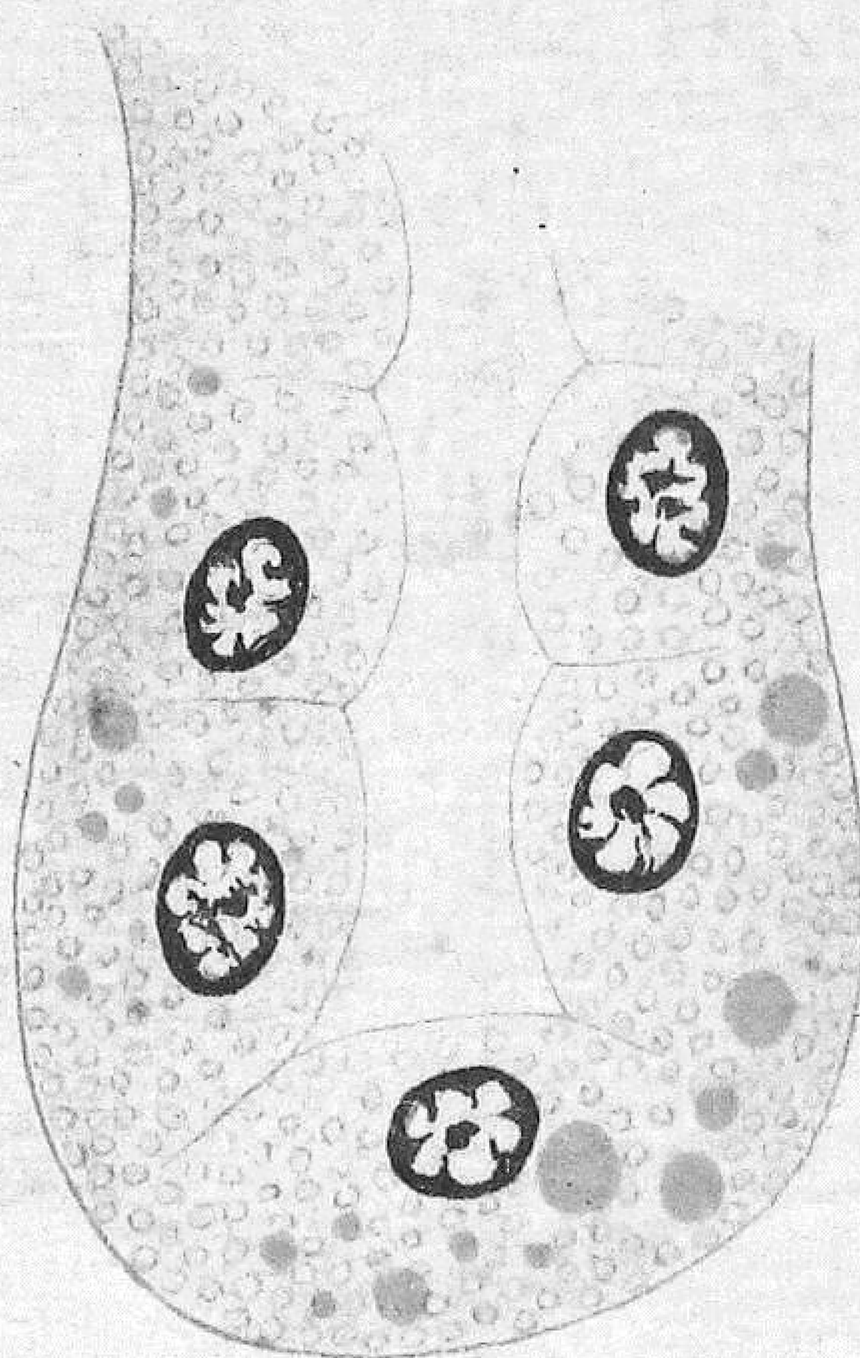


Fig. 8.

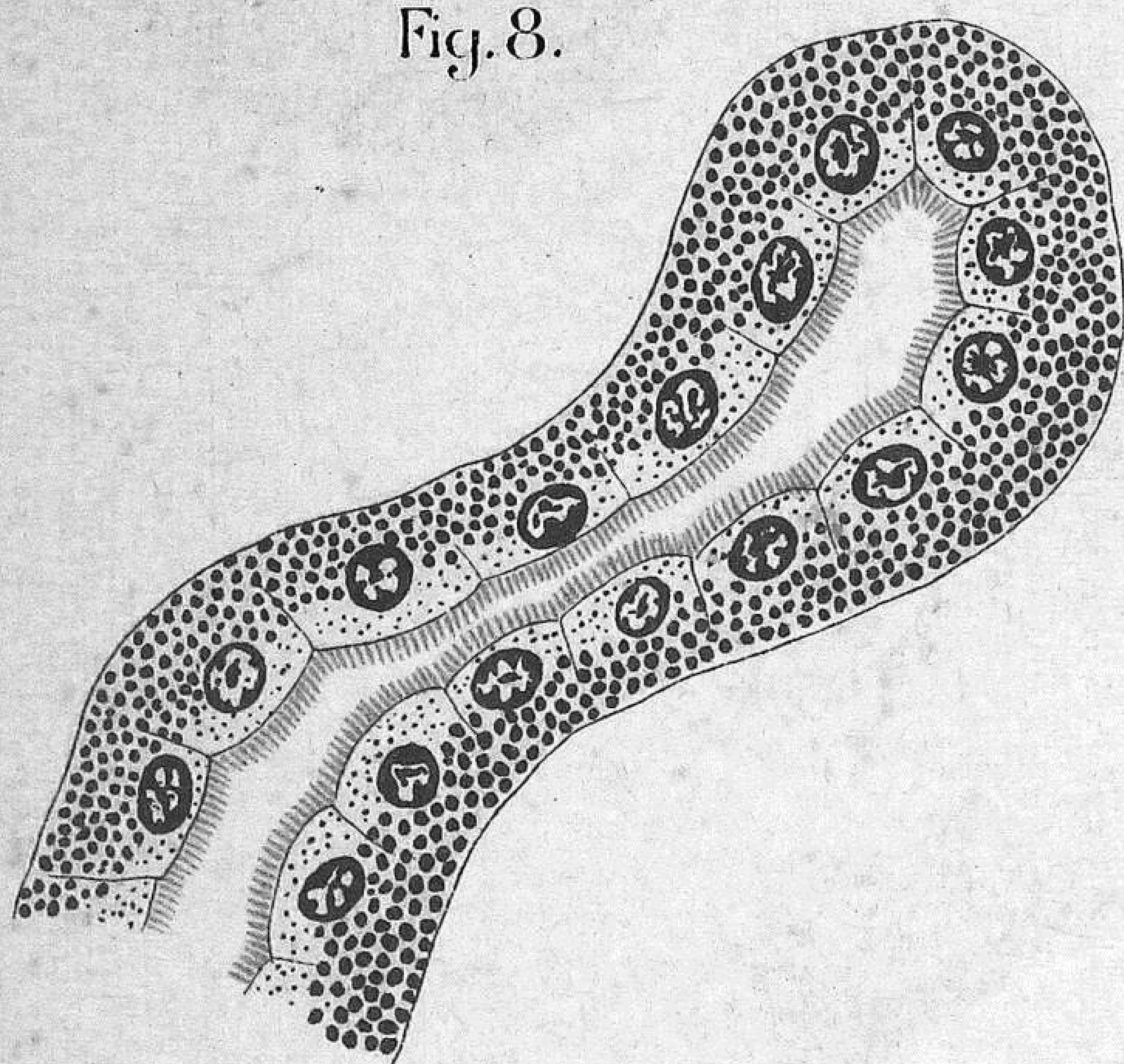


Fig. 9.

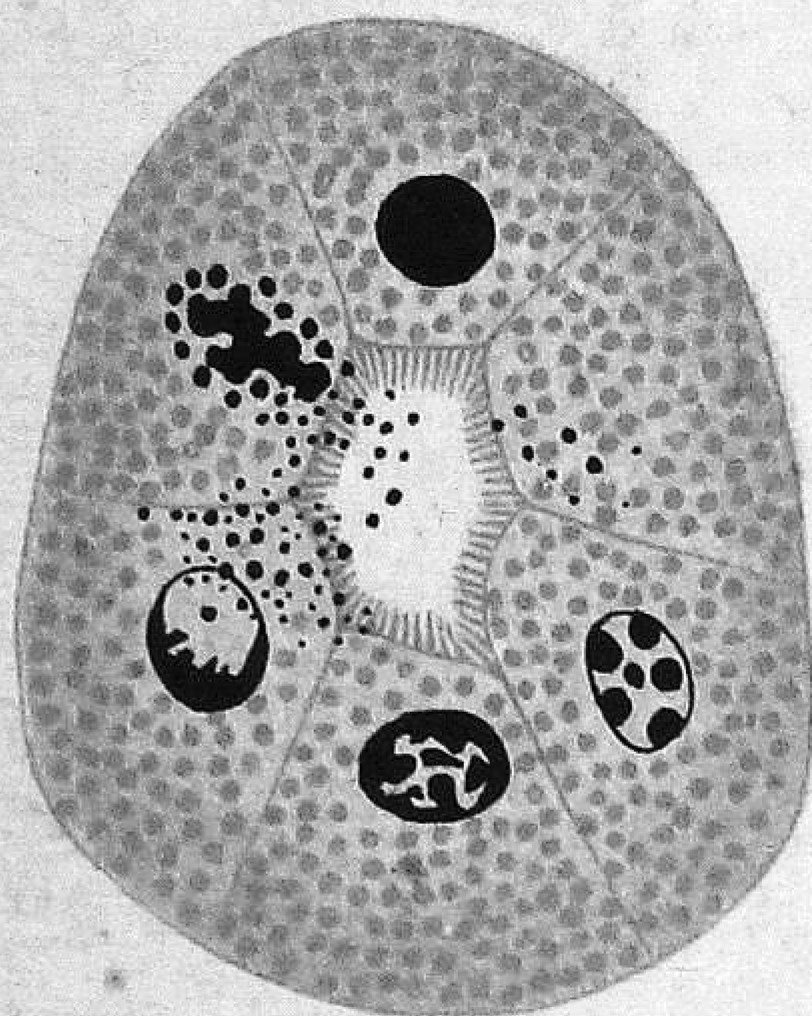
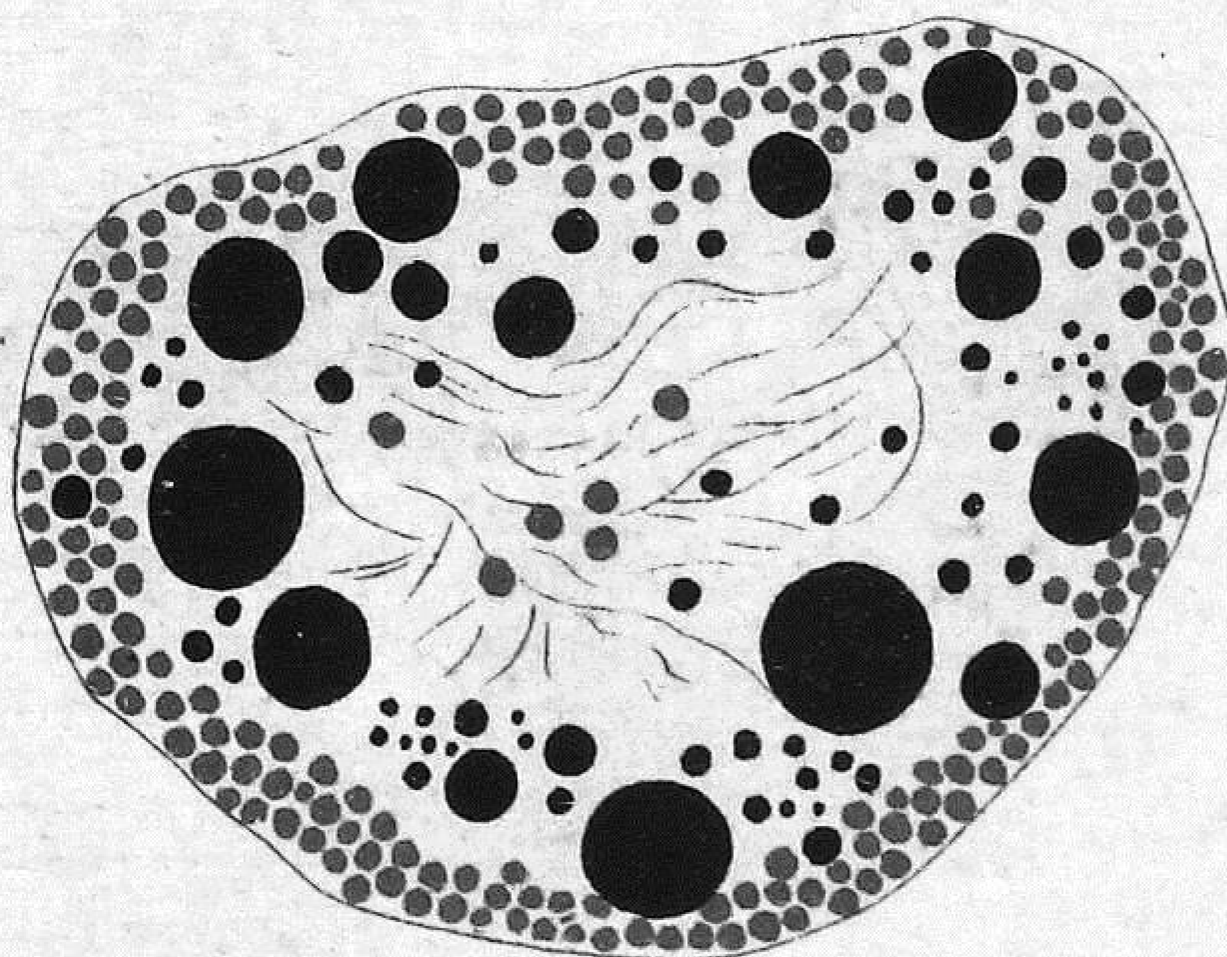


Fig. 10.



Lit. Tacchinardi e Ferrari-Pavia